

(C) WPI/Derwent

AN - 1988-045801 [07]

AP - JP19860144064 19860620

CPY - YAMA

DC - B04 B05 B07

DR - 0482-U 0758-U 1065-U

FS - CPI

IC - A61K9/10 ; A61K47/00

MC - B04-C01A B10-C02 B12-G02 B12-J05 B12-M11F

M2 - [01] H4 H498 H9 J0 J014 J1 J172 J3 J373 M225 M231 M232 M233 M262 M281
M311 M312 M313 M321 M332 M342 M343 M349 M381 M393 M416 M431 M620 M782
M903 M904 P646 P721 R033 V0 V902 V911 V921; 8807-06901-M

- [02] B415 B515 B701 B713 B720 B815 B831 G037 G563 H100 H181 H402 H405
H464 H482 H721 H722 J012 J013 J171 J272 J371 L722 M210 M211 M225 M231
M262 M273 M280 M281 M282 M283 M312 M313 M316 M321 M331 M332 M342 M343
M381 M383 M391 M392 M411 M431 M510 M520 M530 M540 M541 M620 M782 M903
M904 P646 P721 R033 V0 V771; 8807-06902-M 8807-06903-M

- [05] H1 H100 H181 M225 M231 M273 M281 M320 M416 M431 M620 M782 M903
M904 M910 P646 P721 R033; R01065-M

- [06] B415 B701 B713 B720 B815 B831 H721 H722 J0 J012 J2 J272 M225 M231
M262 M282 M313 M321 M332 M343 M383 M391 M411 M431 M510 M520 M530 M540
M620 M782 M903 M904 P646 P721 R033; 8807-06904-M

- [07] F012 F013 F014 F015 F016 F019 F123 F199 H4 H405 H424 H484 H5 H523
H7 H721 H8 J0 J014 J1 J111 J112 J3 J322 J371 K0 L8 L814 L815 L818 L819
L824 L831 L832 L834 L835 M1 M126 M129 M141 M149 M210 M211 M225 M231
M262 M282 M283 M311 M313 M316 M321 M323 M331 M332 M342 M343 M344 M373
M383 M392 M393 M413 M431 M510 M523 M530 M540 M782 M903 P646 P721 R033
V0 V772

- [08] G013 G100 H4 H401 H441 H8 J0 J011 J3 J341 M210 M211 M262 M281
M320 M414 M431 M510 M520 M531 M540 M782 M903 M904 M910 P646 P721 R033;
R00758-M

- [09] B415 B701 B713 B720 B793 B799 B815 B831 M210 M211 M262 M282 M320
M411 M431 M510 M520 M530 M540 M620 M782 M903 M904 P646 P721 R033;
R07812-M

M5 - [03] M431 M782 M903 M904 M910 P646 P721 R033 S131 S132 S133 S134 S142
S143 S205 S303 S317 S503 U560 U563; R00482-M

- [04] M431 M782 M903 M904 P646 P721 R033 S131 S132 S133 S134 S141 S142
S143 S317 U560 U563; R07811-M

PA - (YAMA) YAMANOUCHI PHARM CO LTD

PN - JP63002922 A 19880107 DW198807 009pp

PR - JP19860144064 19860620

XA - C1988-020332

XIC - A61K-009/10 ; A61K-047/00

AB - J63002922 Drug carrier contains N-higher acylglutathione of formula
(I), as base material. In (I), R is 11-17C alkyl; RCO- may be
palmytoyl. Drug carrier may be lysosome. Pref. carrier contains (I)
and phospholipid as base material.

- USE/ADVANTAGE - Drug carrier lysosome for absorption of
pharmaceuticals used in treating liver disease. (I) intakes
pharmaceuticals into its lysosome-like folliculus and indicates
organ-selective accumulation. (I) is useful for improving
organ-reachability of pharmaceuticals. Cpd. (I) is partic. useful as
carrier of remedy for hepatopathy such as glutathion or antidote.
Glutathione-sealed lysosome prepn., prepd. by addn. of
phosphotidylcholine to N-higher acylglutathione, increases
pharmacological effect of glutathion by accumulation.(0/0)

⑫ 公開特許公報 (A)

昭63-2922

⑬ Int. Cl.⁴A 61 K 9/10
47/00

識別記号

3 2 7
3 4 2

庁内整理番号

6742-4C

⑭ 公開 昭和63年(1988)1月7日

審査請求 未請求 発明の数 2 (全9頁)

⑮ 発明の名称 ドラッグキャリア

⑯ 特 願 昭61-144064

⑰ 出 願 昭61(1986)6月20日

特許法第30条第1項適用 昭和61年3月10日 社団法人日本薬学会発行の「日本薬学会第106年会講演要旨集」に発表

⑱ 発 明 者	際 田 弘 志	徳島県徳島市雑賀町西開24-45-103
⑱ 発 明 者	秋 本 雅 美	東京都文京区大塚4-45-9-702
⑱ 発 明 者	荒 木 美 智 代	東京都豊島区西巣鴨1-28-3-305
⑱ 発 明 者	辻 美 津 子	福岡県福岡市南区長住7-4-10
⑱ 発 明 者	加 藤 百 合 子	東京都新宿区北新宿1-12-14
⑲ 出 願 人	山之内製薬株式会社	東京都中央区日本橋本町2丁目5番地1
⑳ 代 理 人	弁理士 藤野 清也	外1名

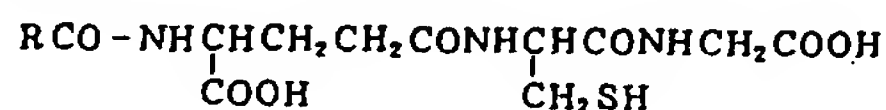
明 細 書

1. 発明の名称

ドラッグキャリア

2. 特許請求の範囲

1. 一般式



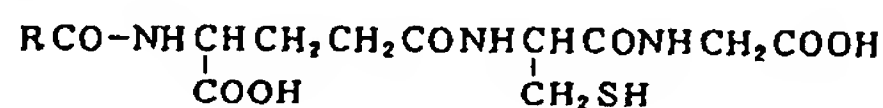
(式中 R は炭素数が 11 乃至 17 個のアルキル基を意味する)

で示される N-高級アシルグルタチオンを基剤とするドラッグキャリア

2. RCO- がパルミトイル基である特許請求の範囲第 1 項記載のドラッグキャリア

3. ドラッグキャリアの形態がリボソームである特許請求の範囲第 1 項又は第 2 項記載のドラッグキャリア

4. 一般式



(式中 R は炭素数が 11 乃至 17 個のアルキル基を意味する)

で示される N-高級アシルグルタチオン及びリン脂質を基剤とするドラッグキャリア

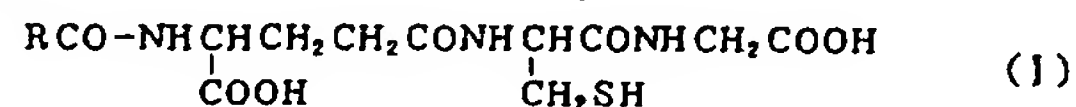
5. RCO- がパルミトイル基である特許請求の範囲第 4 項記載のドラッグキャリア

6. ドラッグキャリアの形態がリボソームである特許請求の範囲第 4 項又は第 5 項記載のドラッグキャリア

3. 発明の詳細な説明

〔産業上の利用分野〕

本発明は、下記一般式 (I) で示される N-高級アシルグルタチオンを基剤とするドラッグキャリアに関する。特に本発明は肝臓をターゲットとする薬物を取り込むためのリボソームに関する。



(式中 R は炭素数が 11 乃至 17 個のアルキル基を意味する)

〔従来の技術とその問題点〕

リボソーム (liposome) は、生体膜の研究に用いられてきた脂質人工膜の一種で、脂質を少くとも 50% (w/w) 以上の水に、その脂質固有のゲル-液晶相転移温度以上で懸濁した際に形成される脂質 2 分子膜よりなる閉鎖小胞である。

リボソームは、その内部の水層や脂質 2 分子層に種々の薬物を保持すること、生体で分解可能で毒性の低い特定の脂質がリボソーム形成能を有すること、薬物吸収に関与する生体膜に親和性を有することから、近年薬物の吸収性の改善、活性増強、安定化、徐放持続化の他、薬物を目的組織に直接到達させるための担体としても注目され、その製剤化研究が盛んである。

従来リボソーム形成に用いられている脂質は、ホスファチジルコリンなどのリン脂質が一般的であり、まれにグリセロ糖脂質も用いられている。

しかしながら、これらのリン脂質やグリセロ糖脂質を膜成分とするリボソームは、目的組織

-3-

活性を有し、肝疾患治療剤等種々の適応症の予防治療剤として汎用されており、その投与による組織分布が、投与ルートにより相違するが、肝臓、腎臓、脾臓、皮膚、血漿等に比較的多いことは周知である。しかしながら、グルタチオン自体の組織到達性については更に改善する必要があるが、それを目的としてグルタチオンを内部水相に保持させたホスファチジルコリンのリボソームを調製した Wendell らの報告 [Biochem. Pharmacol., 31 (22), 3601-, 3607-(1982)] も知られているが、前記と同様の組織到達性改善においてなお問題点を含んでいる。

〔問題点を解決するための手段〕

本発明者らは、以前より目的組織へ薬物を選択的に到達させ蓄積させるリン脂質等に代わる脂質を探索し、先にアルキルグリコサイドがリボソーム様小胞を形成することを見出し、ドラッグキャリアへの応用を検討してきたが、今般 N-高級アシルグルタチオン殊に N-パルミトイルグルタチオンがリボソーム様小胞を形成す

への薬物到達改善の点において未だ不十分であり、かつその内部に保持する薬物の量に自ら限界があるため、所期の薬理効果を達成することが出来ないという問題があり、実用化されるには到っていない。

一方、N-高級アシルグルタチオン (I) は、ケミカル アブストラクト (Chem. Abstr.) には現在まで収録されていないが、化合物 (I) に包含される N-パルミトイルグルタチオンは特公昭47-19775 号公報の記載によって公知である。

該公報には、N,S-ジアシルグルタチオンの製造原料の 1 つとして、N-アシルグルタチオンを使用すること、そしてその実施例 5 において N-モノパルミトイルグルタチオンを原料として、N,S-ジパルミトイルグルタチオンを合成したことが記載されている。

しかし、該公報には N-モノパルミトイルグルタチオンの上記製造中間体以外の用途や具体的製法、物性についての開示はない。

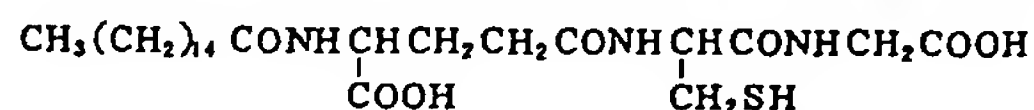
なお、グルタチオン自体は、種々の生物学的

-4-

ること、このリボソームは肝臓に対する顕著な選択的蓄積性を有すること、及びこの N-高級アシルグルタチオンとリン脂質とを膜成分とし、グルタチオンを内相に担持したリボソームが最も顕著な肝疾患に対する薬理活性を有することを見出し本発明を完成した。

すなわち、本発明は上記一般式 (I) で示される N-高級アシルグルタチオンを基剤とするドラッグキャリアをその構成とする。

上記一般式 (I) において、R は具体的にはウンデシル基、ドデシル基、トリデシル基、テトラデシル基、ペンタデシル基、ヘキサデシル基、ヘプタデシル基などが挙げられる。一般式 (I) で示される化合物は、これらの R の具体的な基が結合した全ての N-高級アシルグルタチオンを包含するが、その代表的化合物としては、N-パルミトイルグルタチオンなどが挙げられる。



N-パルミトイルグルタチオン

なお、前記特公昭47-19775号公報にはN-パルミトイルグルタチオン自体の具体的な製法については全く記載がなく、わずかにN,S-ジパルミトイルグルタチオンの製法において、「グルタチオンのアミノ基は、主としてpH 9.5~8.5でアシル化」されると記載していることから、N-アシルグルタチオンの一般的合成はグルタチオンとアシル化剤とを、スルフィド基のアシル化pHの7~8.5とは異なるpH条件下のpH 8.5~9.5で反応せしめることと~~知ら~~され~~る~~。しかし、システインメルカプト基の反応性は極めて高く、かかる製法では少なくとも副反応は避けられず、Biochim. et Biophys. Acta, 29, 273-280 (1958)に開示のS-パルミトイルグルタチオンや、N,S-ジパルミトイルグルタチオンが夾雑し、単離も容易ではない。

本発明者らは、N-パルミトイルグルタチオンの新たな合成法をも開発したものであり、その合成法につき以下に例示する。

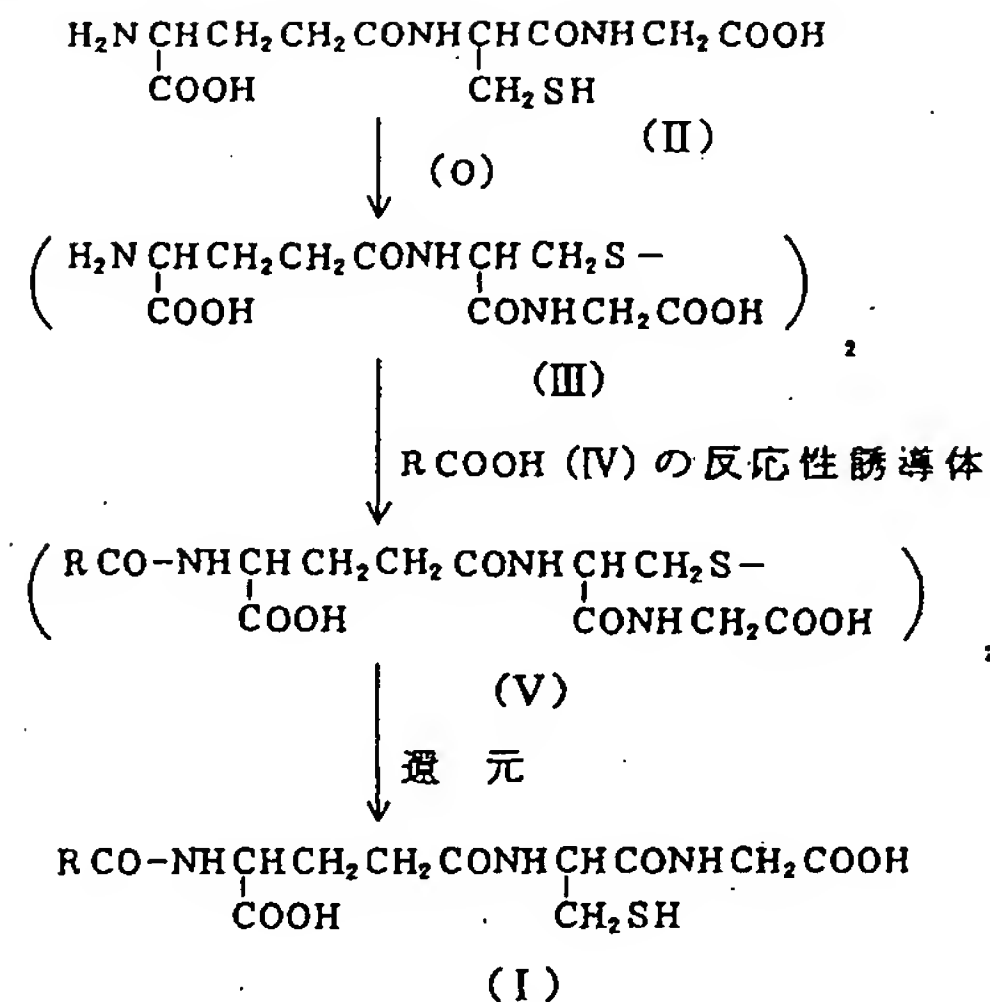
-7-

し、得られたジ高級アシル酸化型グルタチオン(V) [AGSSGA]を次いで還元することにより製造される。

第1工程は、公知の酸化型グルタチオンの製造工程で通常公知手段により容易に達成できる。例えば、水やエタノール、エーテル等の有機溶媒又はこれらの混合溶媒中、空気を通じて自然酸化させるか、又は無機又は有機の酸化剤、例えば過酸化水素、過ヨウ素酸塩、ハロゲン、過ギ酸、過安息香酸、過フタル酸、モノ過フタル酸等で酸化させる。反応の際、酸化剤の種類や反応条件にもよるが、トリエチルアミン、ピリジン、ピコリン、ルチジン、N,N-ジメチルアニリン、炭酸カリウム、炭酸ナトリウム、炭酸水素ナトリウム、水酸化ナトリウム等の塩基の存在下に実施するか、あるいは硫酸銅の如き二価の銅イオン(Cu⁺⁺)を生成する物質を反応促進剤として添加するのが有利である。

第2工程において用いられる高級脂肪酸(IV)の反応性誘導体としては、酸クロライド、酸ブ

第1製法



(反応式中Rは前記と同じ意味を表わす)
一般式(I)で示される化合物は、グルタチオン(II) [GSH]を出発物質とする場合、グルタチオン(II)を酸化し、得られた酸化型グルタチオン(III) [GSSG]と一般式(IV)で示される高級脂肪酸の反応性誘導体とを反応させて、アシル化

-8-

ロマイドの如き酸ハライド；酸アジド；N-ヒドロキシベンゾトリアゾール、N-ヒドロキシスクシンイミド、p-ニトロフェノール等との活性エステル；酸無水物；アルキル炭酸やp-トルエンスルホン酸等との混合酸無水物等が挙げられるが、活性エステル、酸ハライド、酸無水物が特に好ましい。

反応は、第1工程と同様の溶媒中、必要ならば塩基性条件下に化合物(III)と前記反応性誘導体とを反応させる。

用いられる塩基としては、トリエチルアミン、ピリジン、ピコリン、ルチジン、N,N-ジメチルアニリン、炭酸カリウム、炭酸ナトリウム、炭素水素ナトリウム、水酸化ナトリウム等の無機及び有機の塩基が挙げられる。

また、反応性誘導体が活性エステルである場合は、反応に際し、ジシクロヘキシルカルボジイミド、1,1-カルボニルジイミダゾール等の縮合剤の存在下に実施するのが有利である。

第3工程は、上記第2工程で得られた化合物

-9-

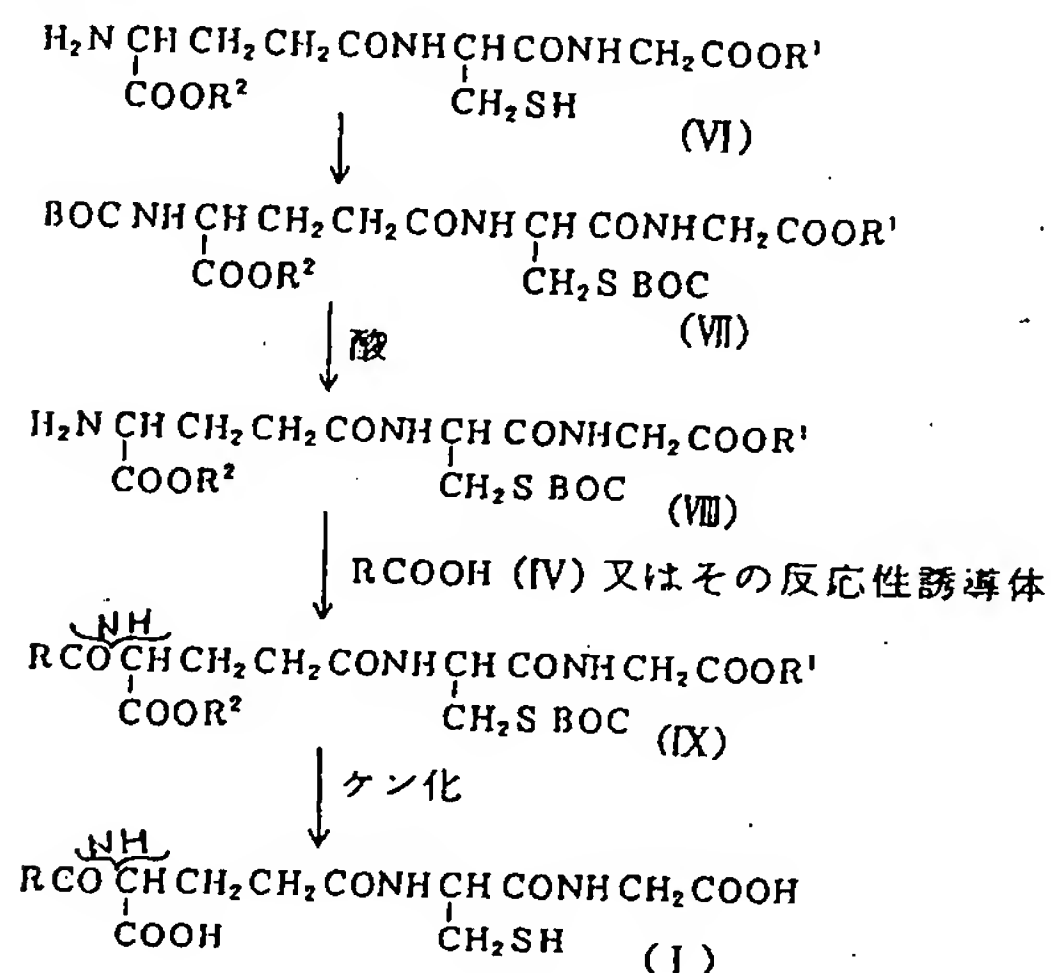
-165-

-10-

をパラジウム触媒などの存在下接触還元するかあるいは水素化ホウ素ナトリウムなどの還元性のホウ素化合物によって還元する方法が有利に用いられる。

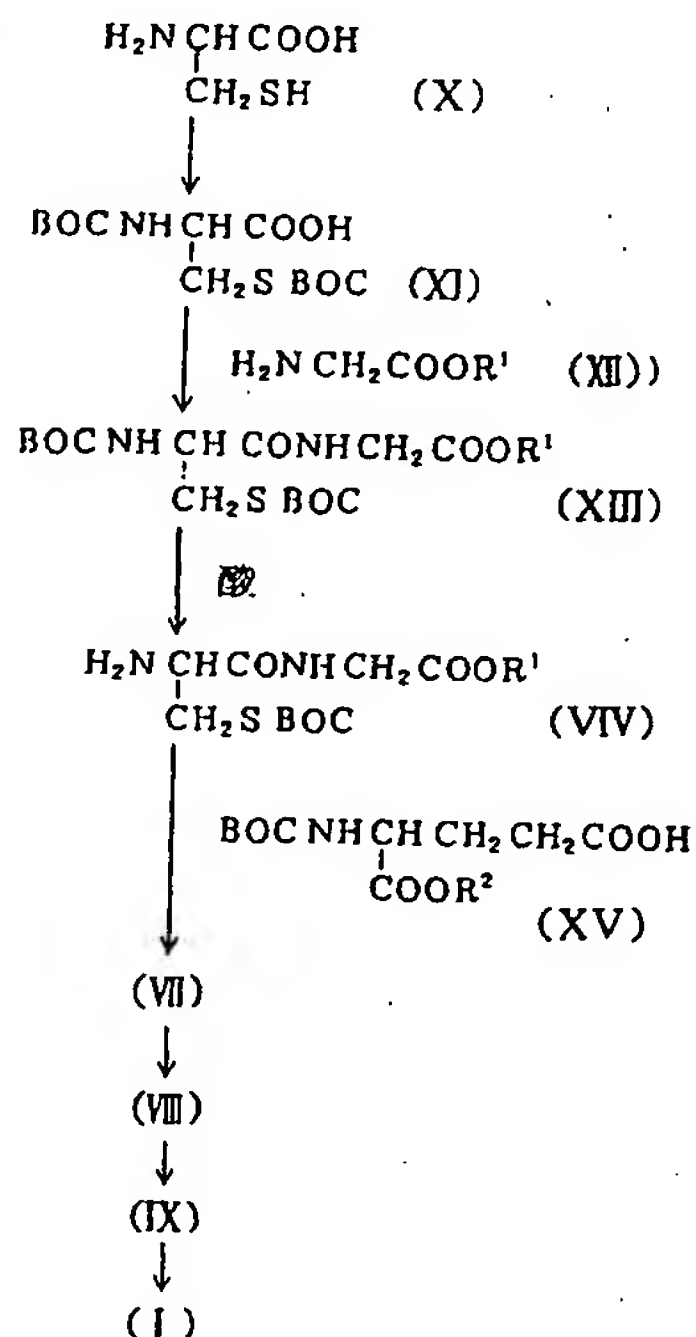
なお、上記の合成法はグルタチオンを製造原料とする方法であるが、公知のグルタチオンジエステルあるいは、各アミノ酸を出発物として製造することができる。

第2製法



-11-

第3製法



-13-

(反応式中 Rは前記の意味を有し、R¹及びR²は同一又は異なって低級アルキル基を、BOCはt-ブトキシカルボニル基を意味する)

この合成法は、アミノ基及びメルカプト基に導入される保護基t-ブトキシカルボニル基が、アミノ基の保護基である場合酸により、メルカプト基の保護基である場合、塩基によるケン化で容易に脱離する性質を有し、かつカルボキシ基の保護基であるメチル基などのエステル残基がケン化により容易に脱離する性質を有することを利用する方法である。

すなわち、公知のジエステル化合物(VI)を常法によりt-ブトキシカルボニル化することによりN,S-ジ-BOC-グルタチオンジエステル(VII)となし、これを酸処理してS-BOC-グルタチオンジエステル(VIII)となし、これに高級脂肪酸(IV)又はその反応性誘導体を反応せしめ得られたS-BOC-N-高級アシルグルタチオンジエステル(IX)を塩基で処理することにより製造される。

-12-

第2製法と同様の考え方により、化合物(I)はシステイン(X)を出発原料とし、各アミノ酸より製造することができる。

すなわち、システイン(X)を常法によりt-ブトキシカルボニル化し、得られたN,S-ジ-BOC-システイン(XI)にグリシン低級アルキルエステル(XII)と反応させてN,S-ジ-BOC-システイニルグリシンエステル(XIII)となし、これを酸処理して、S-BOC-システイニルグリシンエステル(XIV)とし、これにN-BOC-グルタミン酸α-モノエステル(XV)とを反応させて、前記化合物(VII)となし、以後第2製法に従い化合物(I)を製造することができる。

上記、第2及び第3製法の処理手段自体は、特公昭46-35429号公報等により公知であり、公知手段に準じて処理すればよい。

これら種々の方法によって得られた化合物(I)は、親油性をも有しており、ジアシルグルタチオンと同様の方法、すなわち、濃縮、再結晶、各種クロマトグラフィー等通常当分野で

用いられる手段により単離・精製される。

一方、本発明のドラッグキャリアとは、医薬品を保持する担体、殊にN-高級アシルグルタチオンのリボソームの形成能を利用するリボソームを意味する。

リボソームには、その構造から大きく分けて、多重の同心円状のラメラ（脂質2分子膜）を有する小胞、すなわち多重ラメラ小胞（MLV, multilamellar vesicle）、小さな一重膜の小胞、すなわち小さな単ラメラ小胞（SUV, small unilamellar vesicle）や大きな一重膜の小胞、すなわち大きな単ラメラ小胞（LUV, large unilamellar vesicle）がある。本発明のリボソームはいずれの構造にすることも可能である。

本発明リボソームにおいて使用される膜形成成分としては、少なくともN-高級アシルグルタチオン(I)を10% (w/w) 以上、好ましくは40~100% (N-高級アシルグルタチオン単品) 含有するものが用いられ、混合系の基剤である場合に添加される化合物(I)以外の膜形成成分とし

-15-

本発明のリボソームに保持させる薬剤としては、肝臓に蓄積することにより薬理効果を高めることが可能な薬剤、殊に肝臓疾患治療剤、解毒剤等が好ましい。殊にグルタチオンやグルタチオンとの相加的、相乗的薬理効果を発揮し、通常併用される薬剤が好適である。中でも、グルタチオンを封入薬物とする場合は、膜形成成分として、N-高級アシルグルタチオンとリン脂質とを用いることが、N-高級アシルグルタチオンあるいはリン脂質単独の膜成分リボソームで予想される効果よりも更に顕著な相乗効果を発揮するので最も好適である。これに関しては、種々の要因が考えられるが、その要因の一つとして、N-高級アシルグルタチオンを基剤の一つとして含有するリボソームが生体組織に選択的に蓄積して、生体内脱アシル化酵素の作用を受けてグルタチオンに変換していることが考えられる。

従って、本発明の化合物(I)は、生体内において薬理活性を発現する医薬化合物としての有

ては、ホスファチジルコリン、ホスファチジルエタノールアミン、ホスファチジルセリン、ホスファチジルイノシトール、リゾホスファチジルコリン、スフィンゴミユリン、卵黄レシチン、大豆レシチン等の天然若しくは合成のリン脂質又は水素添加リン脂質、グリセロ糖脂質、セチルガラクトサイドの如きアルキルグリコサイド、ジアルキル型合成界面活性剤等の1種又は2種以上の混合物が挙げられる。

本発明のリボソームは、コレステロールやコレスタン等のステロールを膜安定化剤として、またステアシルアミン、ジセチルホスフェート、ホスファチジン酸、ガングリオシド等を荷電物質として含ませ、膜形成成分に加えるのが好ましい。

ステロール類は膜形成成分1部に対し、0~2部の範囲内、殊に膜形成成分に対しほぼ同量添加するのが有利である。また荷電物質は、膜形成成分1に対して0~0.5部の範囲内、殊に0.25%程度添加するのが好適である。

-16-

用性をも有する。

なお、本発明のリボソームには脂質酸化を防ぐ目的でビタミンEなどのトコフェロール類等の抗酸化剤を添加してもよい。

本発明のリボソームの調製法には特に限定はなく、これまで知られている種々のリボソーム調製法が利用できる。

例えば、N-高級アシルグルタチオン、必要により他の膜形成基剤、膜安定化剤、荷電物質、その他の親脂質性添加物、及び脂質2分子膜中に保持される親脂質性の薬物である場合には該薬物を、クロロホルム、エタノール等の有機溶媒に溶解し、溶媒を減圧留去して、薄膜を形成させ、これに親水性薬物の場合は該薬物を加えた水溶液、好ましくは緩衝液を加え、得られた混液を振盪、好ましくは超音波振盪し、懸濁液となし、次いで溶媒を除去してリボソーム製剤とする。

このリボソーム製剤はそのまま使用に供することもできるが、通常は生理食塩水等で洗浄し

後、必要により凍結乾燥し、種々の製剤形態、例えば懸濁液剤、錠剤、カプセル剤、顆粒剤、粉末剤等に調製される。

〔製剤例、実験例〕

本発明のN-高級アシルグルタチオンがリボソーム様小胞を形成し、優れた臓器選択的移行性を有し、薬物含有リボソームとするときは、優れた薬理効果を発揮することは以下の実験によって確認された。

-19-

で1スポット(Rf値0.85)になるまでメタノール：水＝3：2の混液で再結晶を繰り返してN-パルミトイルグルタチオンの白色結晶を得た(収率49.8%)。

融点 170～171℃

II) 製剤例と取り込み率の測定

ナス型コルペン中に、先に合成したN-パルミトイルグルタチオン43.6mg(80μmole)、コレステロール(CH)16.2mg(40μmole)およびメタノール20mlを加え、エバポレートした。ナス型コルペンの表面に半透明の膜ができた後、3000 dpm/0.1mlシュクロース緩衝液2mlを添加し、攪拌した。溶液が一様になった後透析チューブに入れ、リン酸緩衝液(PBS)で、2昼夜透析し、透析前後の放射活性を測定することにより、取り込み率を測定した。コレステロール(CH)を添加しないものについても同様に操作し測定した。

なお、対照としてホスファチジルコリン、ジパルミトイル酸化型グルタチオンについても、

-21-

(化合物(I)のリボソーム形成能)

実験方法

i) 化合物(I)の合成例

ナス型コルペン中にグルタチオン1.58g(5mmole)、炭酸水素ナトリウム1.68g(20mmole)および精製水60mlを加え、40℃の湯浴中で攪拌しながら、ペーパークロマトグラフィー(展開溶媒ブタノール：酢酸：水＝4：1：3)ニヒドリン反応で1スポット(Rf値酸化型0.15,還元型0.52)になるまで空気酸化を行った。

完全に酸化した後、パルミチン酸とN-ヒドロキシスクシンイミドとの活性エステル(mp.90℃)3.6g(10mmole)をテトラヒドロフラン60mlに溶解させたものを少量ずつ添加し一夜攪拌した後、室温で水素化ホウ素ナトリウムを少量ずつ加え再び一夜攪拌した。

白濁した溶液を10%塩酸でpH1に調整し、濃縮乾固した後、精製水50mlを加え、浮取したものを乾燥し、薄層クロマトグラフィー(展開溶媒クロロホルム：メタノール：水＝13：7：1)

-20-

コレステロールを添加したもの及びコレステロールを添加しないものを調製して測定した。但し、ホスファチジルコリン、酸化型グルタチオンについては各々40μmole(パルミトイル基1モルに対してコレステロール0.5モルの割合)ずつとした。

実験結果

実験結果を下表に示す。

表1. 取り込み率(%)

基 剤	+コレステロール	コレステロールなし
ホスファチジルコリン	15.4 ± 4.1	13.6 ± 2.7
N-パルミトイルグルタチオン	14.9 ± 2.9	0.04
ジパルミトイル酸化型グルタチオン	12.8 ± 2.6	0.18

一般的なりボソーム製剤において専ら用いられているリン脂質のホスファチジルコリンを基

-168-

-22-

剤とし、コレステロールを膜安定化剤とするリボソームは、N-パルミトイルグルタチオンを膜成分とし、コレステロールを膜安定化剤とするリボソームと同様な取り込み率を示す。

この取り込み率から N-パルミトイルグルタチオン+コレステロールの小胞は脂質 2 分子膜の MLV (multilamellar vesicle, 多重ラメラ小胞) を形成しているものと認められる。

(リボソームによる臓器蓄積性)

実験方法

1) 製剤調製例

膜成分; (1) ホスファチジルコリン

(2) N-パルミトイルグルタチオン

組成; 膜成分 / ジセチルホスフェート / コレステロール

濃度; $20 \mu\text{mole/ml}$

タイプ; SUV (small unilamellar vesicle, 小さな単ラメラ小胞)

マーカ; ^3H -イヌリン

ナス型コルペンに N-パルミトイルグルタチオ

-23-

実験結果

実験結果を表 2 に示す。

表 2. 組織分布 (投与量の%)

	N-パルミトイル グルタチオン リボソーム	ホスファチジル コリンリボ ソーム
肝臓	67.42 ± 2.47	23.57 ± 4.73
腎臓	0.33 ± 0.08	0.58 ± 0.15
肺臓	0.31 ± 0.07	0.76 ± 0.25
脾臓	1.91 ± 0.31	8.71 ± 3.07

ホスファチジルコリンの組織分布は、従来知られている値とはほぼ一致し、肝臓に対して 23.57%、脾臓に対して 8.71% 蓄積している。それに対して N-パルミトイルグルタチオンリボソームは、肝臓に対して 67.42% とホスファチジルコリンリボソームの 2 倍以上、投与量の $\frac{2}{3}$ が蓄積する反面、脾臓には 1.91% とホスファチジルコリンの $\frac{1}{4}$ 以下の蓄積しか認められない。

N-パルミトイルグルタチオンを膜成分とす

-25-

ン 109.0 mg ($200 \mu\text{mole}$), コレステロール 40.5 mg ($100 \mu\text{mole}$), およびメタノール 20 ml を加え、エバポレートした。ナス型コルペンの表面に膜ができた後 0.1 mM イヌリン緩衝液 4.8 ml , [^3H] イヌリン ($1 \text{ mG}/5 \text{ ml}$) 0.2 ml を添加し、攪拌した後バース型ソニケーターで 2 時間超音波振盪し、ポアサイズ 0.05μ の透析膜を用いて 3 昼夜透析した。

II) 組織分布の測定

得られたリボソームをラットに静注し、4 時間の血液及び尿の採取後、ラットを殺し、各臓器を摘出し、各臓器に残存する放射活性を測定し、組織分布を投与量の百分率で求めた。

$$\text{組織分布 (\%)} = \frac{\text{各臓器の残存放射活性}}{\text{全投与リボソームの放射活性}} \times 100$$

-24-

るリボソームは、従来のリボソームよりも顕著な選択性をもって肝臓に蓄積することが判明した。

なお、腎臓及び肺臓には各リボソームともほとんど蓄積していない。

(薬理作用)

実験方法

1). 薬剤

- (1) グルタチオン静注剤
- (2) ホスファチジルコリンを基剤とする MLV グルタチオン封入リボソーム
- (3) ホスファチジルコリンを基剤とする SUV グルタチオン封入リボソーム
- (4) セチルガラクトサイドを基剤とする SUV グルタチオン封入リボソーム
- (5) N-パルミトイルグルタチオンとホスファチジルコリンを基剤とする SUV グルタチオン封入リボソーム

-26-

ii) 製 剤 化

前記手振り振盪法及び超音波振盪法により、上記 MLV 及び SUV グルタチオン含有リボソームを調製した。

iii) 薬理効果の測定

DDY マウス (雄性, 25~30g) に, 上記薬剤の各々を静注し (前投与), 30 分後にアセトアミノフェン 500 mg/kg のジメチルスルホキシド溶液を腹腔内投与し, さらにそれから 1.5 時間後に再度アセトアミノフェン 500 mg/kg のジメチルスルホキシド溶液を腹腔内投与し, 24 時間後にマウスを殺し, 血漿 0.1 ml 中の GOT を 2,4-ジニトロフェニルヒドラジンを用いた Reitman & Frankel の方法で吸光度として測定した。

-27-

この結果から明らかなように, ノーマルマウス, コントロールマウスにおいては GOT 活性は吸光度として約 0.25 であるが, アセトアミノフェンを投与すると約 0.9 にまで上昇する。

グルタチオン静注剤を前投与しても効果はない。

ホスファチジルコリンリボソームでは若干の効果が認められる。

本発明者らが先に報告したアルキルグルコサイドに含まれるセチルガラクトサイドを基剤とするリボソームでは効果は認められなかった。

これに対し, N-パルミトイルグルタチオンとホスファチジルコリンを基剤とする SUV リボソーム (モル比 PGSH : PC = 1 : 1) でグルタチオンを封入したものは, 顕著な GOT 上昇抑制が認められた。

[発明の効果]

本発明の N-高級アシルグルタチオンは, 薬物をそのリボソーム様小胞に取り込み, 臓器選択的蓄積性を示すことから, 薬物の目的組織到達性改

実験結果

測定結果を表 3 に示す。

表 3 GOT 抑制活性

	グルタチオン投与量 (mg/kg)	GOT/吸光度 X ± S. D.
(1) グルタチオン静注	81.8	0.7294 ± 0.2110
(2) ホスファチジルコリン MLV リボソーム	81.8	0.7992 ± 0.0496 *
(3) ホスファチジルコリン SUV リボソーム	81.8	0.7239 ± 0.1558 *
(4) セチルガラクトサイド SUV リボソーム	57.2	0.8681 ± 0.0327
(5) N-パルミトイルグ ルタチオン+ホスファ チジルコリン SUV リボソーム	81.8	0.4958 ± 0.0737 **
正常マウス	—	0.2415 ± 0.0772
コントロールマウス	—	0.2583 ± 0.0910
リン酸緩衝液 アセトアミノフェン	—	0.8923 ± 0.0614

* 5% で有意 ** 1% で有意

-28-

善を図るためのドラッグキャリアとして有用である。特に肝臓蓄積性を目標とする薬剤, 中でもグルタチオンの如き, 肝臓疾患治療剤や解毒剤のキャリアとして有用である。

殊に, 本発明の N-高級アシルグルタチオンは, 基剤としてさらにホスファチジルコリンを加えて, グルタチオン封入リボソーム製剤とするときは, 肝臓蓄積に基づくグルタチオンの薬理効果の発現を飛躍的に高め, 肝臓を目標とするグルタチオン製剤のドラッグキャリアとして極めて有用である。

本発明によって得られるリボソーム製剤は, 経口又は非経口投与される。非経口投与は, 注射剤によるのが好ましい。投与量は, 保持される薬物の種類によって種々異なり, 通常の製剤に投与量を基準にし, 薬物の保持される量, 並びに投与対象者の症状, 年齢, 性別等をも勘案の上適宜決定される。投与は通常 1 日 3~4 回に分けて行われる。しかし, 本発明リボソーム自体には除放性が認められないが, 各種の製剤形態とする際に除放性を付与する手段を施した場合には, 投与は 1 日 1~

-29-

-170-

-30-

2 回 と す る。

特許出願人

山之内製薬株式会社

代理人

弁理士 藤 野 清 也

弁理士 長 井 省 三